



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁷ : A21D 2/26, 13/08	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 00/27209 (43) Date de publication internationale: 18 mai 2000 (18.05.00)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/02763 (22) Date de dépôt international: 10 novembre 1999 (10.11.99) (30) Données relatives à la priorité: 98/14135 10 novembre 1998 (10.11.98) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): LU [FR/FR]; ZI du Bois de l'Epine, Avenue Ambroise Croizat, F-91130 Ris Orangis (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): DUBREIL, Laurence [FR/FR]; Le Tertre, F-44430 Le Loroux Bottereau (FR). LE GUILLOU, Anne [FR/FR]; 72, rue Emile Zola, F-94260 Fresnes (FR). VEREL, Aliette [FR/FR]; 8, résidence du Chat Noir, F-91570 Bièvres (FR). (74) Mandataires: VIALLE-PRESLES, Marie-José etc.; Cabinet Ores, 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR).		(81) Etats désignés: AE, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, EE, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>
(54) Title: USE OF PUROINDOLINE FOR PREPARING BISCUITS (54) Titre: UTILISATION DE PUROINDOLINE POUR LA PREPARATION DE BISCUITS (57) Abstract The invention concerns the use of puroindoline for controlling the texture and/or density of biscuits. (57) Abrégé L'invention concerne l'utilisation de puroindoline pour contrôler la texture et/ou la densité de biscuits.		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce			TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	ML	Mali	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MN	Mongolie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MR	Mauritanie	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MW	Malawi	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	MX	Mexique	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Pays-Bas	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NO	Norvège	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	NZ	Nouvelle-Zélande		
CM	Cameroun			PL	Pologne		
CN	Chine	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CU	Cuba	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CZ	République tchèque	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
DE	Allemagne	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DK	Danemark	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
EE	Estonie	LR	Libéria	SG	Singapour		

UTILISATION DE PUROINDOLINE POUR LA PREPARATION DE BISCUITS

L'invention est relative à l'utilisation de
5 puroindolines en tant qu'additif de biscuiterie.

Les puroindolines sont des protéines présentes dans le grain de blé, et ayant la capacité d'interagir avec les lipides. 2 isoformes des puroindolines, respectivement dénommées puroindoline a et
10 puroindoline b, ont été caractérisées. Il s'agit de protéines basiques (pI ~10) de faible poids moléculaire (13 kDa environ) ; elles comprennent 10 résidus cystéine, formant 5 ponts disulfures, et un domaine riche en résidus tryptophane [BLOCHET et al., In : « Gluten
15 Proteins 1990 » ; (BUSHUK W. and TKACHUK R., eds), AACC, St Paul Minnesota, pp 314-325 (1991) ; BLOCHET et al., FEBS Lett., 329:336-340, (1993).

D'autre part, une publication récente [GIROUX et MORRIS, Proceedings of the National Academy of
20 Sciences, vol. 95 p.6262-6266, (1998)] indique que la protéine dénommée friabiline, considérée comme un marqueur biochimique de la dureté des grains de blé [GREENWELL et SCHOFIELD, Cereal Chem., 63, 369-380 (1986)], est un hétérodimère de puroindolines a et b
25 impliqué dans le contrôle de la dureté de l'endosperme.

Les puroindolines possèdent des propriétés tensioactives particulières, liées à leur forte affinité pour les lipides ; elles ont en particulier un fort pouvoir moussant, qui est augmenté en présence de lipides
30 polaires [DUBREIL et al. J. Agric. Food Chem. 45:108-116 (1997) ; WILDE et al., J. Agric. Food Chem., 41, 1570-1576 (1993)]. Il a ainsi par exemple été montré que l'addition de puroindoline permettait de restaurer les propriétés moussantes de la bière additionnée d'acide
35 stéarique, de phospholipides, ou de triglycérides [CLARK et al., J. Inst. Brew. 100, 23-25 (1994)], ou celles du

blanc d'oeuf additionné d'huile [HUSBAND et al., In : « Food Macromolecules and Colloids » (DICKINSON E. et LODENT D., eds), Royal Society of Chemistry, London, pp. 285-296, (1995)].

5 Des travaux récents, concernant les applications potentielles des propriétés des puroindolines dans le cadre de la fabrication du pain, montrent que l'ajout d'une faible quantité de puroindoline (0,1% par rapport au poids de la farine)
10 modifie fortement les propriétés rhéologiques de la pâte et la structure de la mie des pains [DUBREIL et al. Cereal Chem. 75, 2: 222-229, (1998)]. Toutefois, l'effet des puroindolines sur le volume du produit final après cuisson varie nettement selon la qualité boulangère de la
15 farine utilisée (qui est liée pour une grande part à sa composition en gluténines). Lorsque les puroindolines sont ajoutées à une farine de bonne qualité boulangère, on observe une diminution de l'ordre de 10% du volume du pain, (en d'autres termes, une augmentation de sa
20 densité) par rapport au pain fabriqué sans ajout de puroindolines ; cette diminution de volume atteint 20% si une farine de mauvaise qualité boulangère est utilisée. En revanche, si on ajoute les puroindolines à une farine de qualité boulangère moyenne (résultant du mélange des 2
25 précédentes), on observe une augmentation du volume du pain de l'ordre de 20%.

Les Inventeurs ont entrepris l'étude de l'effet des puroindolines sur des préparations plus complexes que la pâte à pain, telles que les pâtes
30 habituellement utilisées en pâtisserie et en biscuiterie.

Ils ont ainsi constaté que l'addition de puroindoline lors de la préparation de biscuits induisait un effet significatif sur la texture et/ou la densité du produit fini, et qu'il était possible de contrôler
35 indépendamment ces deux paramètres.

La présente invention a pour objet l'utilisation de puroindoline comme additif permettant de contrôler la texture et/ou la densité d'un biscuit.

Au sens de la présente invention, on entend
5 par : « puroindoline », non seulement les puroindolines a et b de blé, mentionnées ci-dessus, mais également toute protéine ou tout peptide possédant des caractéristiques fonctionnelles et structurales similaires à celles
10 desdites puroindolines de blé, et en particulier toute protéine constituée par au moins une chaîne polypeptidique comprenant au moins 8 résidus cystéine impliqués dans des ponts disulfures, et un domaine riche en tryptophane, et possédant une affinité pour les lipides et des propriétés tensioactives semblables à
15 celles desdites puroindolines de blé.

Ceci inclut en particulier toute protéine naturelle ou recombinante, constituée par au moins une chaîne polypeptidique ayant la séquence d'une des isoformes ou variants alléliques des puroindolines de
20 blé, ou de protéines homologues présentes dans d'autres céréales telles que l'avoine, l'orge, le triticale, le seigle, ou par au moins une chaîne polypeptidique comprenant au moins les portions caractéristiques de ladite séquence, et nécessaires aux propriétés
25 fonctionnelles des puroindolines, telles que définies ci-dessus.

Ces puroindolines peuvent être utilisées sous forme de monomères ainsi que sous forme d'assemblages homomères ou hétéromères.

30 Au sens de la présente invention, on entend par : « biscuit », tout produit obtenu par cuisson d'un mélange, généralement sous forme de pâte, comprenant, outre de la farine de céréale(s), d'autres ingrédients apportant des protéines, des glucides, et/ou des
35 lipides ; il peut s'agir par exemple de protéines d'origine animale telles que les protéines d'œuf, de

lait, etc., de protéines d'origine végétale telles que les protéines de soja, etc., de sucre, de matières grasses d'origine animale ou végétale. La pâte est préparée, à partir desdits ingrédients, selon une
5 quelconque des techniques classiquement utilisées en biscuiterie, qui sont connues en elles-mêmes ; on peut ainsi, par exemple, préparer une pâte laminée, ou formée par rotative, (pour obtenir des produits de type biscuit sec), une pâte levée pour obtenir des produits de type
10 cake), une pâte foisonnée (pour obtenir des produits de type génoise), une pâte fermentée pour obtenir des produits de type « cracker » etc. On peut également préparer un biscuit en effectuant tout ou partie du mélange, du pétrissage et de la cuisson des ingrédients,
15 dans un cuiseur-extrudeur.

Les travaux antérieurs dans le domaine de la boulangerie mentionnés ci-dessus, ont montré que l'ajout de puroindolines à des farines dépourvues de puroindolines endogènes, entraînait une augmentation de
20 la densité, et donc une diminution du volume du pain [DUBREIL et al., publication précitée (1997)]. Il pouvait donc être supposé que l'utilisation en biscuiterie de ces mêmes farines additionnées de puroindolines, entraînerait des effets semblables.

25 Or les Inventeurs ont constaté que, de manière surprenante, l'ajout de puroindoline dans le cadre de la préparation de biscuits n'entraînait d'augmentation de la densité que dans le cas particulier des biscuits foisonnés préparés à partir d'une pâte à teneur élevée
30 (c'est à dire supérieure à 7%) en matière grasse, et pouvait, dans ce cas, être contrebalancée par l'addition d'émulsifiants. Dans les autres cas, on observe au contraire une diminution de la densité ; d'autre part, on observe que l'ajout de puroindolines entraîne dans tous
35 les cas une augmentation de la fermeté des biscuits moelleux et des biscuits foisonnés.

Les effets de l'utilisation de puroindoline peuvent être modulés selon la teneur en eau de la pâte, et/ou sa teneur en matières grasses et/ou la quantité d'émulsifiant qu'elle contient.

5 La diminution de la densité induite par l'addition de puroindolines est par exemple plus faible dans le cas des produits obtenus à partir d'une pâte contenant peu d'eau (biscuits secs laminés, par exemple).

10 L'effet sur la diminution de la densité devient également moins important lorsque la teneur en matières grasses augmente ; comme indiqué ci-dessus, pour une teneur élevée en matières grasses, on observe au contraire dans le cas des biscuits foisonnés, une augmentation de la densité.

15 Toutefois, dans les biscuits foisonnés contenant de la matière grasse et des puroindolines, la diminution de la densité est favorisée par l'addition d'émulsifiants tels que la lécithine, les mono et di glycérides d'acides gras, les esters acétiques, 20 lactiques, citriques, tartriques des mono et diglycérides d'acides gras, les esters mono- et di- acétyltartrique des mono et di glycérides d'acides gras, les esters mixtes acétiques et tartriques des mono et di glycérides d'acides gras, les sucroesters d'acides gras, les esters 25 polyglycériques d'acides gras, les esters de propane 1, 2 diol d'acides gras, le stéaroyl-2- lactylate de sodium, le stéaroyl-2-lactylate de calcium. Les émulsifiants permettent de contrebalancer l'effet d'une teneur élevée en matières grasses susceptibles de piéger les 30 puroindolines.

Conformément à l'invention, ladite puroindoline peut par exemple être utilisée :

35 - pour diminuer la densité d'un biscuit foisonné obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est inférieure ou égale à 4% du poids total de la pâte ;

- pour diminuer la densité d'un biscuit, sec ou moelleux, non-foisonné obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est comprise entre 2% et 30%, de préférence entre 2 et 20 % dans le cas d'un biscuit
5 sec, du poids total de la pâte ;

- pour augmenter la fermeté d'un biscuit moelleux ou foisonné ; cette augmentation de fermeté contribue notamment à l'obtention d'une sensation de fondant en bouche, appréciée des consommateurs.

10 La puroindoline induit une diminution de la densité supérieure à celle observée dans les mêmes conditions, avec des produits habituellement employés pour diminuer la densité des biscuits, tels que l'ovalbumine ; elle peut donc avantageusement être
15 utilisée en remplacement de tout ou partie de ces produits, ou d'ingrédients qui les contiennent, notamment les oeufs. L'effet sur la diminution de la densité sera alors d'autant plus marqué que la diminution de la quantité d'œufs entraîne un abaissement de la teneur
20 totale en matières grasses dans le produit fini. En outre, les œufs constituant une matière première très variable en termes de qualité, leur remplacement par la puroindoline permet donc à densité égale, une meilleure reproductibilité du produit fini.

25 L'addition de puroindoline peut également permettre d'améliorer une farine de mauvaise qualité biscuitière, et d'obtenir à partir de celle-ci des biscuits de densité similaire à ceux obtenus à partir d'une farine de bonne qualité biscuitière.

30 Pour la mise en œuvre de la présente invention, on peut ajouter la puroindoline à raison de 0,02 à 5%, de préférence 0,05 à 2% du poids sec de la farine utilisée pour la préparation du biscuit, selon la teneur initiale de la farine en puroindoline, et la
35 teneur finale que l'on souhaite obtenir.

On peut utiliser une préparation de puroindoline purifiée (contenant une seule isoforme ou un mélange d'isoformes) ; on peut également utiliser une fraction céréalière (par exemple gluten ou amidon) enrichie en puroindoline.

Les farines antérieurement utilisées en biscuiterie ont une teneur en puroindoline qui ne dépasse pas 0,2% (du poids sec de la farine). L'invention englobe également l'utilisation, pour la préparation de biscuits, de farines ayant une teneur en puroindoline supérieure à cette valeur, et de préférence comprise entre 0,2 et 5%, avantageusement entre 0,2 et 2% du poids sec de la farine.

On entend par « farine » non seulement de la farine de blé, mais également de la farine d'autres céréales, telles que le seigle, l'orge, le triticale, ou l'avoine, ou un mélange de ces farines.

On peut utiliser des farines enrichies en puroindolines par addition de puroindoline purifiée, ou d'une fraction riche en puroindoline, comme indiqué ci-dessus ; on peut également utiliser des farines obtenues à partir de variétés de céréales sélectionnées sur le critère de leur richesse en puroindolines, ou de céréales transgéniques surexprimant au moins une des isoformes de la puroindoline.

La présente invention englobe également les pâtes à biscuits, ainsi que les biscuits, susceptibles d'être obtenus à partir desdites farines.

La présente invention sera mieux comprise à l'aide du complément de description qui va suivre, qui se réfère à des exemples non-limitatifs d'utilisation de puroindoline dans la préparation de différents types de biscuits.

EXEMPLE 1 : INCORPORATION DE PUROINDOLINES DANS LA FARINE

Un mélange des isoformes a et b de puroindoline a été extrait et purifié en utilisant la

méthode décrite par BLOCHET et al. (1991, publication précitée), modifiée par COMPOINT et al. [Large scale and rapid purification of plant lipid binding proteins by combining TRITON X114 phase partitioning and ion exchange chromatography, Conference on Plant Proteins from European crops, Nantes, France (1996)] ; la préparation obtenue est lyophilisée.

Les farines enrichies en puroindoline sont obtenues en mélangeant le lyophilisat, qui est désigné dans les exemples ci-après, par le terme « puroindolines purifiées », avec la farine.

Pour les expérimentations décrites dans les exemples ci-après, les mélanges ont été réalisés d'une part, à partir de farine du type habituellement employé en biscuiterie, contenant environ 0,1% à 0,15 % de puroindolines endogènes, et d'autre part, à partir de farine ne contenant pas de puroindoline endogène. Lorsque la quantité de farine utilisée est inférieure à 300 g, les mélanges sont réalisés directement dans le pétrin. Lorsque la quantité de farine utilisée est supérieure à 300 g, le mélange est préalablement homogénéisé par tamisage des poudres (farine + puroindoline) au tamis 800µm.

EXEMPLE 2 : EFFET DES PUROINDOLINES SUR UN BISCUIT SEC LAMINE

. Incorporation des puroindolines dans la farine

a) Farine contenant des puroindolines endogènes

Les puroindolines lyophilisées et de la farine, contenant 0,15 % de puroindolines endogènes sont mélangées dans un pétrin, selon les proportions indiquées dans le Tableau I ci-dessous.

Tableau I

	Farine	Quantité de puroindolines lyophilisées ajoutées
Essai 0%	290 g	0 mg
Essai 0,05%	290 g	145 mg
Essai 0,1%	290 g	290 mg
Essai 0,2%	290 g	580 mg

Parallèlement, des mélanges témoins sont réalisés, en remplaçant les puroindolines par la même quantité d'ovalbumine, qui est une protéine classiquement
 5 utilisée pour augmenter le volume (et donc diminuer la densité), des biscuits.

b) Farine dépourvue de puroindoline endogène

Une autre série d'essais est réalisée en ajoutant 0,2% de puroindolines purifiées, ou 0,2%
 10 d'ovalbumine, à une farine ne contenant pas de puroindoline endogène.

Pour les deux séries d'essais, la farine enrichie en puroindolines ou en ovalbumine est utilisée comme une farine classique dans la préparation d'un
 15 biscuit sec laminé, selon le protocole indiqué ci-après.

. Formule du biscuit sec laminé

On mélange les ingrédients suivants, dans les proportions indiquées ci-après :

	Farine	100
20	Sucre glace	30,00
	Saïndoux	8,00
	Bicarbonate d'ammonium	1,00
	Sel	0,63
	Bicarbonate de sodium	0,50
25	Pyrophosphate de sodium	0,50
	Eau	26,00

Le mélange est pétri pendant 8 minutes (température pétrin : 24°C, vitesse pétrin : 30 trs/min.)

Après repos pendant 30 minutes, la pâte est
 30 laminée et découpée en pâtons à l'emporte-pièces.

Les pâtons sont cuits au four, à une température de 280°C, pendant 7 min.

Densité des biscuits secs laminés




La masse, la longueur et l'épaisseur sont déterminées sur chaque biscuit, et la densité est calculée.

5 Les résultats des essais a) sont illustrés par la Figure 1, qui représente la densité des biscuits en fonction de la quantité de puroindolines purifiées (□) ou de la quantité d'ovalbumine (●) ajoutées à la farine (% en poids par rapport au poids de la farine).

10 Aucune différence significative n'est observée entre les biscuits fabriqués à partir de la farine contenant 0,15% de puroindoline endogène, et ceux fabriqués à partir de cette même farine enrichie avec 0,05% de puroindolines purifiées. Par contre, une
15 diminution de la densité des biscuits de l'ordre de 3% est obtenue lorsque les biscuits sont fabriqués à partir de la farine contenant 0,15% de puroindoline endogène enrichie avec 0,1% ou 0,2% de puroindolines purifiées.

Les résultats des essais b) sont illustrés par
20 la Figure 2, qui représente la densité des biscuits obtenus à partir d'une farine ne contenant pas de puroindoline endogène, sans additif, ou additionnée de 0,2% (en poids par rapport au poids de la farine) de puroindolines purifiées, ou d'ovalbumine .

25 Légende de la Figure 2 :

- Farine sans additif : 
- Farine + 0,2% puroindoline : 
- Farine + 0,2% ovalbumine : 

Les résultats des deux séries d'essais
30 montrent que l'ajout de puroindoline induit une diminution de la densité des biscuits nettement supérieure à celle induite par l'ovalbumine.

EXEMPLE 3 : EFFET DES PUROINDOLINES SUR UN BISCUIT MOELLEUX

Les biscuits sont confectionnés selon la formule (% en poids) indiquée dans le Tableau II ci-dessous :

Tableau II

FARINE	30%
SUCRE	30%
OEUFs	4,5%
MATIERE GRASSE	10%
GLYCERINE	4%
EAU	18%
LACTOSERUM	2%
POUDRES LEVANTES	1,1%
SEL	0,4%
LECITHINE	0,4%

Trois farines différentes sont utilisées : une farine ne contenant pas de puroindoline (témoin 0% de puroindoline), la même farine à laquelle on ajoute 0,1% en poids par rapport au poids de la farine de puroindolines purifiées et une farine contenant 0,1% de puroindolines endogènes (témoin puroindoline endogène).

Pour l'obtention de la farine enrichie en puroindoline, la farine est tamisée avec les puroindolines à l'aide d'un tamis 800µm. Cette farine enrichie est ensuite retamisée avec le reste des poudres juste avant utilisation.

Ces poudres sont respectivement : des poudres levantes, du sel, de la lécithine, du sucre, des œufs en poudre. Elles sont pesées dans un même récipient et mélangées avec la farine juste avant l'emploi.

On effectue ensuite le mélange avec les ingrédients liquides, et l'on procède à la cuisson pendant 10 min. à 180°C.

On mesure la densité des biscuits obtenus, ainsi que l'évolution de leur texture au cours de la conservation. Les mesures sont effectuées selon les protocoles suivants :

Densité :

Des rondelles de 2 cm de diamètre sont découpées à l'emporte-pièce dans le biscuit et pesées. La densité est déterminée selon la formule suivante :

5 $Densité = m / (p \cdot r^2 h / 10)$
 m = masse
 r = rayon
 h = hauteur des rondelles.

Texture :

10 La texture est mesurée à l'aide d'un pénétrromètre INSTRON ; un cylindre, découpé dans le biscuit à tester, est comprimé à vitesse constante. La courbe force-déplacement de la compression est caractéristique de l'échantillon étudié. La mesure de la
15 force moyenne nécessaire pour comprimer le produit permet de déterminer sa fermeté.




Les paramètres de mesure sont les suivants :

- module de compression : cylindre de 2,5 cm de diamètre
- distance entre les plateaux : 15 mm
- 20 - vitesse de traverse : 40mm/mm
- charge de mesure à l'origine HO : 0,1 N
- charge minimale sécurité : 100N
- déplacement maximal (sécurité) : 13
- compression initiale 0%
- 25 - compression finale : 50%
- critère de détection du pic : 0,1 N
- valeur par défaut de max. 1 : 25%

Résultats :Densité

30 Les résultats sont illustrés par la Figure 3.

Légende de la Figure 3 :

- Farine contenant 0,1% de puroindoline endogène: 
- Farine sans puroindoline endogène : 
- 5 - Farine sans puroindoline endogène :
+ 0,1% puroindolines: 

Les biscuits obtenus à partir de la farine dépourvue de puroindoline endogène sont plus denses que les biscuits fabriqués à partir de la farine contenant 10 0,1% de puroindoline endogène. L'ajout de 0,1% de puroindolines purifiées à la farine ne contenant pas de puroindoline endogène entraîne une diminution d'environ 6% de la densité du biscuit ; les biscuits moelleux obtenus de la sorte ont une densité similaire à celle des 15 biscuits obtenus à partir de la farine contenant 0,1% de puroindoline endogène.

Texture

Les résultats sont illustrés par la Figure 4 qui représente l'évolution de la force moyenne (F_{moyen}) 20 au cours du temps, pour les biscuits obtenus à partir des différentes farines testées : farine contenant 0,1% de puroindoline endogène (\blacktriangle) ; farine sans puroindoline endogène (\blacklozenge) ; farine sans puroindoline endogène additionnée de 0,1% (en poids par rapport au poids de la 25 farine) de puroindolines purifiées (\blacksquare).

Ces résultats montrent que l'addition de puroindoline a un effet significatif sur la texture du biscuit. Les biscuits obtenus à partir de la farine sans puroindoline endogène additionnée de puroindolines 30 purifiées, ont une texture plus ferme, après 29 et 56 jours de conservation, que les biscuits obtenus à partir de la farine contenant 0,1% de puroindoline endogène, ou de la farine sans puroindoline endogène. A partir de 80 jours de conservation (ce qui est supérieur à la durée 35 séparant normalement la fabrication du produit de sa

consommation), la différence de texture entre les produits n'est plus significative.

EXEMPLE 4 : EFFET DES PUROINDOLINES SUR UN BISCUIT FOISONNE

5 Les biscuits sont confectionnés selon la formule indiquée dans le Tableau III ci-dessous :

Tableau III

	En %	En grammes
Farine	35	500
Sucre semoule	35	500
Oeufs entiers liquides	30	450

Deux farines différentes sont utilisées : une farine ne contenant pas de puroindoline endogène, et la même farine enrichie avec 0,1% en poids par rapport au poids de la farine de puroindolines purifiées.

La pâte à biscuits ainsi obtenue contient environ 4% de matières grasses apportées par les œufs et la farine.



15 La densité et la texture des biscuits obtenus sont mesurées comme indiqué à l'exemple 3 ci-dessus.

Résultats

Densité

Les résultats sont illustrés par la Figure 5.

20 Légende de la Figure 5 :

- Farine sans puroindolines endogènes : 
- Farine sans puroindolines endogènes + 0,1% puroindolines: 

25 Ces résultats montrent que l'ajout de 0,1% de puroindolines purifiées entraîne une diminution de 14% de la densité des biscuits.

Texture

30 Les résultats sont illustrés par la Figure 6 qui représente l'évolution de la force moyenne (F_{moyen}) au cours de la conservation, pour les biscuits obtenus à partir de la farine sans puroindoline endogène (\blacklozenge), ou de la farine sans puroindoline endogène, additionnée de 0,1%

(en poids par rapport au poids de la farine) de puroindolines purifiées (■).

Les biscuits foisonnés contenant des puroindolines purifiées possèdent une texture plus ferme, qui se traduit par une fermeté supérieure de 13%, à 61 jours de conservation. Cet effet est plus important que celui, décrit à l'exemple 3, observé dans le cas des biscuits moelleux.

EXEMPLE 5 : EFFET DES PUROINDOLINES SUR UN BISCUIT FOISONNE CONTENANT 3% D'HUILE DE COLZA

. Incorporation des puroindolines dans la farine

Les biscuits sont confectionnés selon la formule indiquée dans le Tableau IV ci-dessous :

Tableau IV

	En %	En gramme
Farine	33,5	500
Huile de colza	3	50
Sucre semoule	33,5	500
Oeufs entiers liquides	30	450

Deux farines différentes sont utilisées : une farine ne contenant pas de puroindoline endogène, et la même farine enrichie avec 0,1% de puroindolines purifiées.

L'huile de colza est ajoutée avant l'étape de foisonnement.



La pâte à biscuits ainsi obtenue contient environ 7% de matières grasses, compte tenu de celles apportées par les œufs et la farine.

La densité et la texture des biscuits obtenus sont mesurées comme indiqué à l'exemple 3 ci-dessus.

Densité

Les résultats sont illustrés par la Figure 7.

Légende de la Figure 7 :

- Farine sans puroindolines endogènes : 
- Farine sans puroindolines endogènes + 0,1% puroindolines: 

L'ajout de 0,1% de puroindolines purifiées à la farine ne contenant pas de puroindoline endogène entraîne une augmentation significative, de l'ordre de 20%, de la densité des biscuits.

5 . Texture

Les résultats sont illustrés par la Figure 8 qui représente l'évolution de la force moyenne (F_{moyen}) au cours de la conservation, pour les biscuits obtenus à partir de la farine sans puroindoline endogène (◆), ou de
10 la farine sans puroindoline endogène, additionnée de 0,1% (en poids par rapport au poids de la farine) de puroindolines purifiées (■).

Les biscuits obtenus à partir de la farine additionnée de puroindolines ont, à 35 jours de
15 conservation, une fermeté supérieure de 65% à celle des biscuits obtenus à partir de la farine sans puroindoline.

Les résultats obtenus montrent que l'effet des puroindolines sur la densité des biscuits foisonnés dépend de la teneur en matière grasse de la formule. On
20 peut ainsi utiliser les puroindolines pour diminuer ou au contraire pour augmenter la densité de ce type de produit, selon sa teneur en matières grasses.

L'effet des puroindolines sur la texture apparaît également lié à la teneur en matière grasse ;
25 cependant, il va toujours dans le même sens, c'est-à-dire vers une augmentation de la fermeté.

REVENDICATIONS

1) Utilisation de puroindoline comme additif permettant de contrôler la texture et/ou la densité d'un biscuit.

2) Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'on utilise la puroindoline à raison de 0,02 à 5% en poids par rapport au poids de la farine.

3) Utilisation selon une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que ladite puroindoline est ajoutée à la farine destinée à la préparation dudit biscuit.

4) Utilisation selon une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que ladite puroindoline est ajoutée à la pâte destinée à la préparation dudit biscuit.

5) Utilisation selon une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que l'on utilise la puroindoline pour augmenter la fermeté du dit biscuit.

6) Utilisation selon une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que ladite puroindoline est utilisée pour contrôler la densité d'un biscuit obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est comprise entre 2 et 30% du poids total de la pâte.

7) Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que ladite puroindoline est utilisée pour diminuer la densité d'un biscuit sec obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est comprise entre 2 et 20% du poids total de la pâte.

8) Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que ladite puroindoline est utilisée pour diminuer la densité d'un biscuit moelleux obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est comprise entre 2 et 30% du poids total de la pâte

9) Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que ladite puroindoline est utilisée pour diminuer la densité d'un biscuit foisonné obtenu à partir d'une pâte dont la teneur en matière grasse est inférieure ou égale à 4% du poids total de la pâte.

10) Utilisation selon une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que ladite puroindoline est utilisée pour augmenter la densité d'un biscuit foisonné obtenu à partir d'une pâte sans émulsifiant ajouté dont la teneur en matière grasse totale est supérieure ou égale à 7% du poids total de la pâte

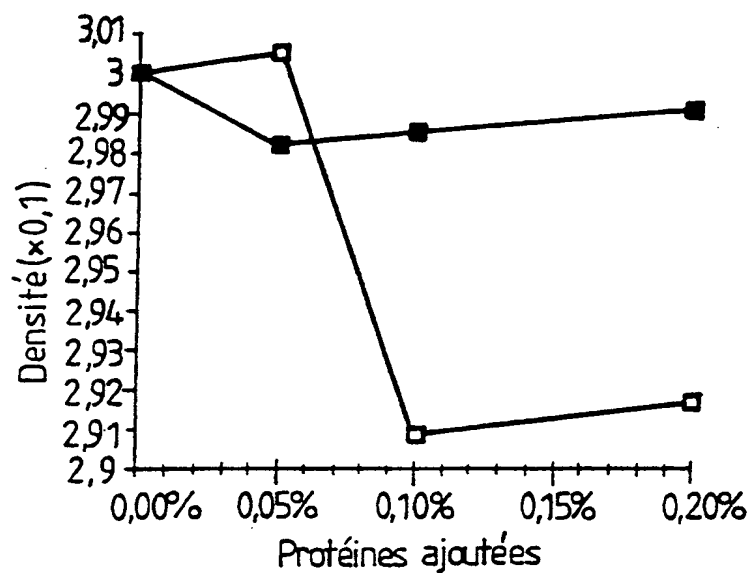
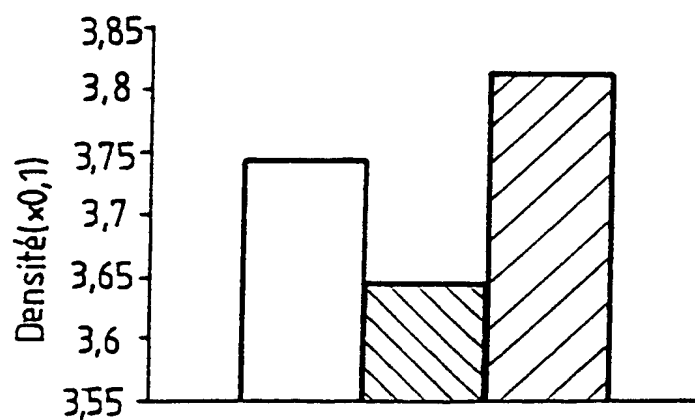
11) Utilisation d'une farine dont la teneur en puroindoline est supérieure à 0,2 % du poids sec de la farine, pour la préparation de biscuits.

12) Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que la teneur en puroindoline de ladite farine est comprise entre 0,2% et 2% du poids sec de la farine

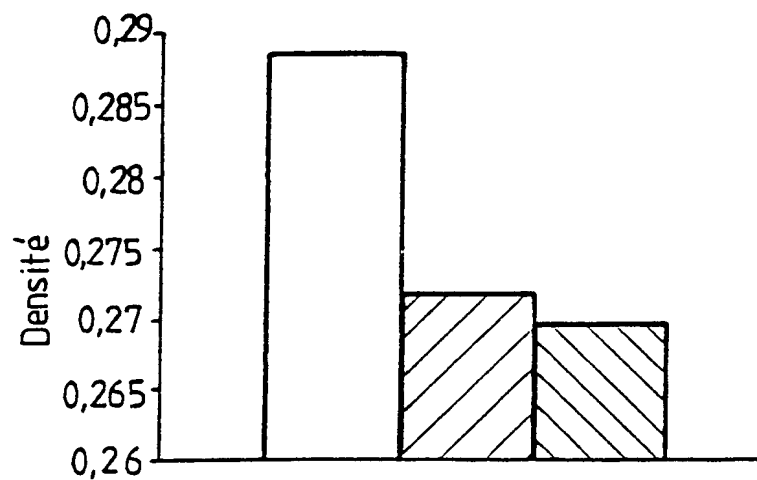
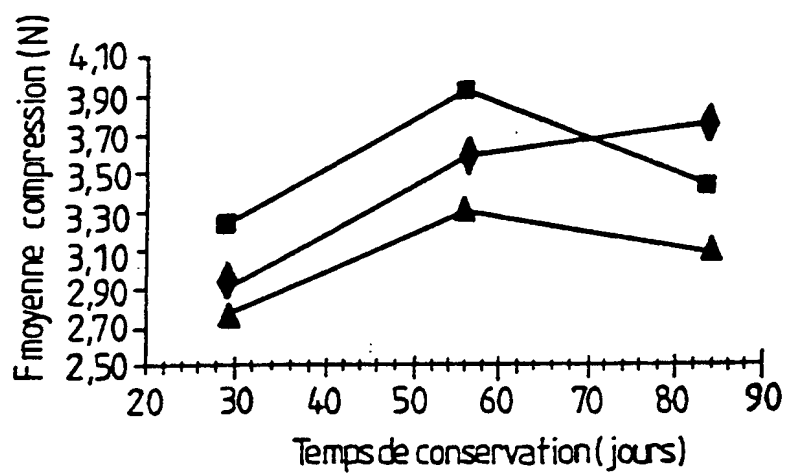
13) Biscuit susceptible d'être obtenu à partir d'une farine telle que définie dans une quelconque des revendications 11 ou 12.

14) Pâte à biscuits susceptible d'être obtenue à partir d'une farine telle que définie dans une quelconque des revendications 11 ou 12.

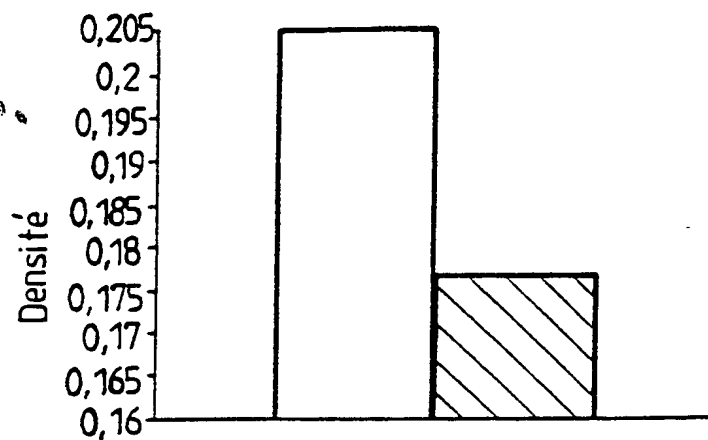
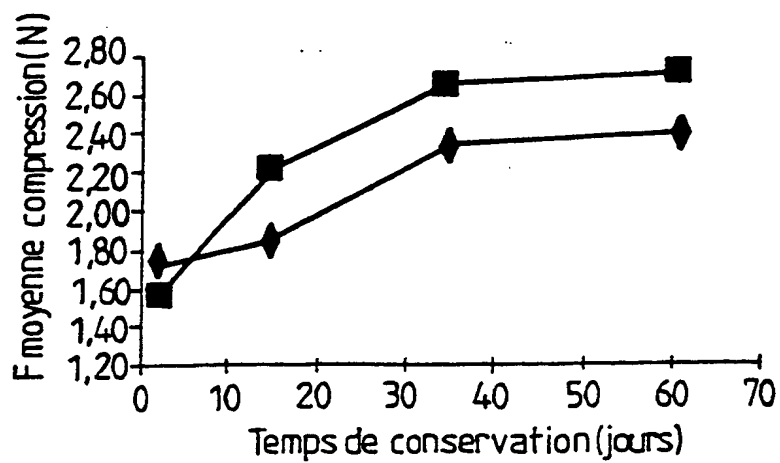
1/4

FIG.1FIG.2

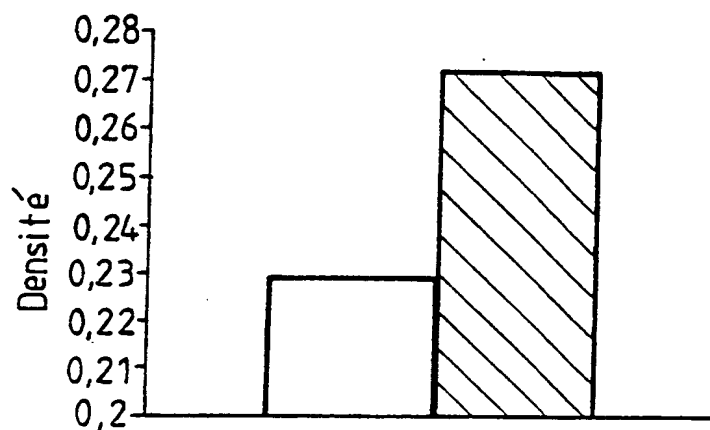
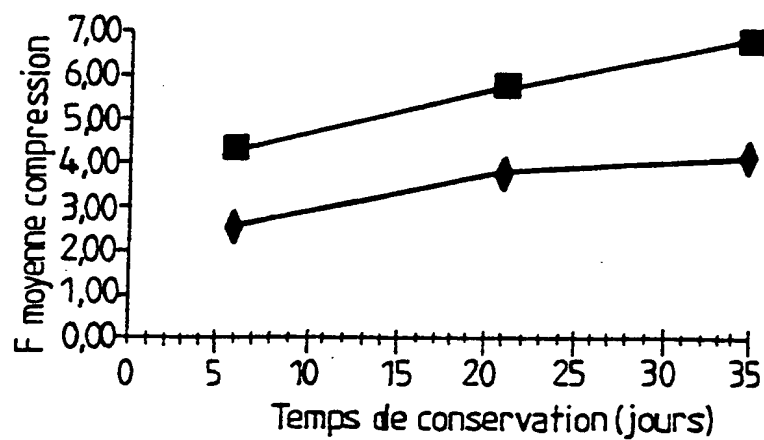
2/4

FIG.3FIG.4

3/4

FIG.5FIG.6

4/4

FIG.7FIG.8



18

1

2

3

4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/02763

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A21D2/26 A21D13/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A21D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	L. DUBREIL ET AL.: "Effect of puroindolines on the breadmaking properties of wheat flour" CEREAL CHEMISTRY., vol. 75, no. 2, 1998, pages 222-229, XP002110545 AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. MINNEAPOLIS., US cited in the application the whole document -----	1, 11, 13, 14

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☐ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 February 2000

Date of mailing of the international search report

15/02/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Dekeirel, M

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dema internationale No

PCT/FR 99/02763

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A21D2/26 A21D13/08

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A21D

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	L. DUBREIL ET AL.: "Effect of puroindolines on the breadmaking properties of wheat flour" CEREAL CHEMISTRY., vol. 75, no. 2, 1998, pages 222-229, XP002110545 AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. MINNEAPOLIS., US cité dans la demande le document en entier -----	1, 11, 13, 14

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☐ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

4 février 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

15/02/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Dekeirel, M



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100